

БІОТЕХНОЛОГІЧНЕ ОДЕРЖАННЯ ДНК-ВАКЦИНИ ПРОТИ ЛІМФОМИ

Д.В. БЕЗРУКАВИЙ^{1*}, Ю.М. КРАСНОПОЛЬСЬКИЙ²

¹ магістрант кафедри ББ та АХ, НТУ «ХПІ», Харків, УКРАЇНА

² професор кафедри ББ та АХ, доктор фарм. наук, НТУ «ХПІ», Харків, УКРАЇНА

* email: dima_b1998@meta.ua

Одним із актуальних питань біотехнології є створення ДНК-вакцин. Такі вакцини розробляються та використовуються у тому числі для імунотерапії ряду онкологічних захворювань, таких як: лімфома, меланома, нейробластома. Дана робота присвячена розробці ДНК-вакцини проти злоякісних новоутворень лімфоїдної тканини – неходжкінських лімфом. Неходжкінські лімфоми (НХЛ) – багаточисельна група злоякісних новоутворень лімфоїдної тканини, які відрізняються за клітинною будовою, молекулярним внутрішньоклітинним особливостям, клінічною картиною, перебігом та прогнозом [1]. Неходжкінські лімфоми входять у десяток найбільш поширених і небезпечних онкологічних захворювань. У 2008 році у світі виявлено 355900 первинних лімфом та 191400 смертей від цього захворювання. Актуальність даної теми полягає у тому, що класичні підходи до лікування онкогематологічних захворювань, у тому числі НХЛ (хіміотерапія, променева терапія, хірургія) наближаються до межі своєї ефективності. Дедалі більшого поширення набуває імунотерапія, клітинна терапія і застосування протиракових вакцин [2].

Метою проекту є розробка методу біотехнологічного одержання ідіотипічної ДНК-вакцини проти неходжкінських лімфом. Задачами проекту є підвищення виходу та покращення якості очищення цільового продукту.

Результатом роботи є розробка технології одержання ДНК-вакцини шляхом культивування рекомбінантного клону штаму-продуценту *E. coli XLI-blue*, отриманий в результаті трансформації *E. coli* за допомогою плазмідної ДНК стандартним кальцій – хладовим методом з подальшим відбором відповідного клону бактерій на середовищі, що містить канаміцин як селективний агент. Продукт являє собою персональну рекомбінантну ідіотипічну ДНК-вакцину проти неходжкінських лімфом, яка може бути використана у комплексі медичних послуг для лікування лімфом після завершення основної терапії для стабілізації ремісії (рис. 1) [3].

Вакцина є розчином плазмідної ДНК у стерильному DPBS буфері (130 – 140 мМ NaCl, 2 – 3 мМ KCl, 10 мМ Na₂HPO₄, 1,8 мМ KH₂PO₄, pH=7,4) з концентрацією ДНК-плазмиди близько 1 мкг / мкл. Зберігається у стерильному флаконі в замороженому вигляді. Лікарська форма даної вакцини – ін'єкційний розчин для внутрішньом'язового введення [3].

Перевагами цієї вакцини є: висока стабільність, високий ступінь очищення, відсутній властивий живим вакцинам ризик реверсії вірулентності.

У найпростішому варіанті ДНК-вакцина являє собою плазмід, що містить ген білка патогену і елементи, необхідні для транскрипції цього гена в клітинах ссавців. При імунізації ДНК потрапляє в клітини організму, транскрибується і відбувається синтез закодованого антигену, який, у свою чергу, ініціює імунну відповідь [4].

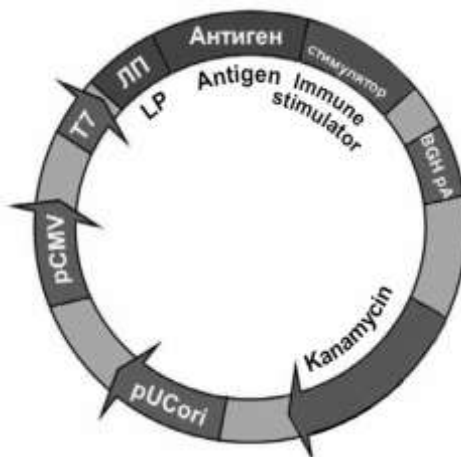


Рис.1 – Структура ДНК-вакцини: *ЛП* – лідерний пептид; *BGHpa* – сайт поліаденілювання; *pUCori* – точка початку реплікації; *pCMV* – еукаріотичний промотор; *T7* – бактеріальний промотор.

В результаті роботи над проектом була розглянута технологія виробництва персональної ідіотипічної ДНК-вакцини проти неходжкінських лімфом. До технології одержання вакцини були внесені зміни, а саме:

- для культивування рекомбінантного штаму *E. coli XL1-blue* використовувати міні-біореактор *Eppendorf DASbox* з робочим об'ємом 350 мл;
- проведення додаткової екстракції хлороформом, а також збільшення часу екстракції на окремих етапах виділення ДНК-плазмиди.

Внесені зміни дозволяють зменшити час культивування, зменшити затрати на електроенергію, краще екстрагувати кінцевий продукт, а також збільшити вихід кінцевого продукту.

Список літератури:

1. Шайн А. А. Онкология : Учебник для студентов медицинских вузов / А. А. Шайн. – Тюмень : Издат. центр «Академия», 2004. – 544 с.
2. Доронина С. Н. Метод получения рекомбинантной идиотипической ДНК-вакцины против лимфом / С. Н. Доронина, Е. П. Вашкевич, А. Н. Мелешко // БГМУ: 90 лет в авангарде медицинской науки и практики: сб. науч. тр. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, Бел. гос. мед. ун-т; редкол. : А. В. Сикорский, О. К. Кулага. – Минск : ГУ РНМБ, 2014. – Вып. 4. – С. 78 – 80.
3. Мелешко А. Н. Метод идиотипической ДНК вакцинации пациентов с лимфомами : инструкция по применению / А. Н. Мелешко, Е. П. Вашкевич, Н. А. Петровская. – Минск : РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии, 2015. – 42 с.
4. Стародубова Е. С. Регуляция процессинга иммуногена: сигнальные последовательности и их использование для создания нового поколения ДНК-вакцин / Е. С. Стародубова, М. Г. Исагуляни, В. Л. Карпов // Acta naturae. 2010. – Т. 2, № 1 (4) – С. 59 – 65.